

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-346794

(43) 公開日 平成11年(1999)12月21日

(51) Int.Cl.⁶

C 1 2 Q 1/02

C 1 2 M 1/00

識別記号

F I

C 1 2 Q 1/02

C 1 2 M 1/00

A

審査請求 未請求 請求項の数14 O L (全 14 頁)

(21) 出願番号 特願平11-145284

(22) 出願日 平成11年(1999)5月25日

(31) 優先権主張番号 1 9 8 2 3 6 5 5 . 7

(32) 優先日 1998年5月27日

(33) 優先権主張国 ドイツ (D E)

(31) 優先権主張番号 2 9 8 1 1 0 6 6 . 0

(32) 優先日 1998年6月23日

(33) 優先権主張国 ドイツ (D E)

(71) 出願人 397013610

ミクロナス インテルメタル ゲゼルシャ
フト ミット ベシュレンクテル ハフツ
ング

Micronas Intermetal
l GmbH

ドイツ連邦共和国 フライブルク ハンス
ーブンテ-シュトラ-セ 19

(72) 発明者 ギュンター イーゲル

ドイツ連邦共和国 テニンゲン シャルン
ホルスト-シュトラ-セ 32

(74) 代理人 弁理士 矢野 敏雄 (外3名)

最終頁に続く

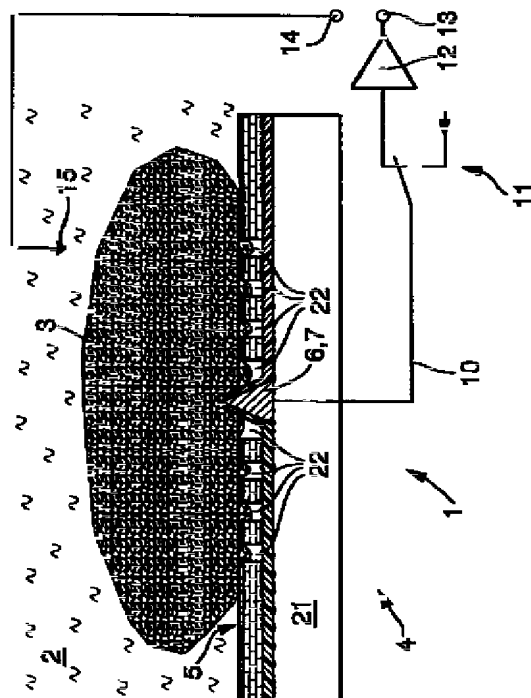
(54) 【発明の名称】 状態量を測定する方法および装置

(57) 【要約】

【課題】 培養基 (2) 中で支持範囲 (5) に付着堆積された生物細胞 (3) の状態量を測定する方法および装置を提供する。

【解決手段】 細胞 (3) の支持範囲 (5) 内に、その縁から間隔を置いて孔を細胞 (3) の細胞膜にあける。その際、孔を囲む、支持範囲 (5) に付着する細胞膜の縁が細胞 (3) の内部に存在する細胞液を培養基 (2) に対して密封する。孔を通して状態量を測定する。

【効果】 細胞の状態量の簡単な測定が可能となり、殊に検査すべき細胞に対する中空針の費用のかかる手作業による位置決めが避けられる。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 細胞(3)の細胞膜に状態量を測定するために少なくとも1つの孔をあける、培養基(2)中に存在する、支持範囲(5)に付着堆積した生物細胞(3)の少なくとも1つの状態量を測定する方法において、孔を細胞(3)の支持範囲(5)内で、その縁から間隔を置いて細胞膜にあけ、この孔を通して状態量を測定することを特徴とする状態量を測定する方法。

【請求項2】 細胞(3)の細胞電位を測定するため、細胞(3)の細胞膜にあけた孔を通して細胞液および培養基(2)の間の電圧を測定することを特徴とする請求項1記載の方法。

【請求項3】 孔を電気ポレーションにより細胞膜にあけることを特徴とする請求項1または2記載の方法。

【請求項4】 細胞(3)を吸引力により支持範囲(5)に固定することを特徴とする請求項1から3までのいずれか1項記載の方法。

【請求項5】 細胞膜に孔をあけた後、孔を通して細胞内操作を実施する、殊に薬剤および／または異物および／または生物学的物質を細胞(3)の内部に挿入することを特徴とする請求項1から4までのいずれか1項記載の方法。

【請求項6】 細胞(3)が付着堆積しうる支持範囲(5)を有する載物台(4)、細胞(3)の内部に存在する細胞液と接触させることのできる、状態量を測定するための少なくとも1つのテストゾンデを有し、その際テストゾンデは測定増幅器と結合しているかまたは結合しうる、培養基(2)中に存在する少なくとも1つの生物細胞(3)の状態量を測定する装置において、支持範囲(5)内にテストゾンデおよびこれを囲む電気絶縁体(9)が、細胞(3)が絶縁体(9)に培養基(2)に対し密封的に堆積可能であるように配置され、細胞(3)の細胞膜の孔あけのためにテストゾンデの範囲内に、少なくとも1つのポレーション工具が支持範囲(5)に配置されていることを特徴とする状態量を測定する装置。

【請求項7】 テストゾンデが測定電極(6)であり、これに細胞(3)の細胞電位を測定するため培養基(2)と接触させうる少なくとも1つの参照電極(15)が所属されていることを特徴とする請求項6記載の装置。

【請求項8】 テストゾンデ(6)が、細胞(3)の細胞膜の電気ポレーションのため電圧源と結合しうる電気ポレーション電極(7)でもあり、電気ポレーション電極(6/7)は支持範囲(5)内に配置され、電気絶縁体(9)により囲まれている少なくとも1つの活性電極範囲(8)を有することを特徴とする請求項7記載の装置。

【請求項9】 ポレーション工具が、細胞(3)の細胞膜の電気ポレーションのため電圧源と結合できる、テスト

ゾンデから距離を有する電気ポレーション電極(7)であり、電気ポレーション電極(6/7)は、支持範囲(5)内に配置され、電気絶縁体(9)により囲まれた少なくとも1つの活性電極範囲(8)を有することを特徴とする請求項6から8までのいずれか1項記載の装置。

【請求項10】 細胞(3)の細胞膜に孔をあけるためのポレーション工具が、少なくとも1つのアクチュエーター、殊にピエゾ素子(31)により、支持範囲(5)の表面に対して横に、載物台(4)に関し可動であることを特徴とする請求項6から9までのいずれか1項記載の装置。

【請求項11】 アクチュエーターが超音波振動を発生するための起動装置と結合していることを特徴とする請求項10記載の装置。

【請求項12】 載物台(4)が支持範囲(5)内に、テストゾンデを囲繞する少なくとも1つのならい削りくぼみ(22)および／またはテストゾンデを囲繞するならい削り突出部を有するならい削り部を有することを特徴とする請求項6から11までのいずれか1項記載の装置。

【請求項13】 載物台(4)の支持範囲(5)内でその表面に、少なくとも1つの細胞付着タンパク質を有するコーティングおよび／または親水性コーティングおよび／またはテストゾンデに直接隣接して疎水性コーティングが配置されていることを特徴とする請求項6から12までのいずれか1項記載の装置。

【請求項14】 支持範囲内に幾つかのテストゾンデがとくにアレイとして配置され、このテストゾンデにその都度少なくとも1つのポレーション工具が所属されていることを特徴とする請求項6から13までのいずれか1項記載の装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、細胞の細胞膜に状態量を測定するため少なくとも1つの孔をあける、培養基中に存在する、支持範囲(Auflagebereich)に付着堆積した生物細胞の少なくとも1つの状態量を測定するための方法に関する。さらに本発明は、細胞が付着堆積しうる支持範囲を有する載物台(Objectträger)、細胞の内部に存在する細胞液と接触させうる少なくとも1つの、状態量を測定するためのテストゾンデ(Messsonde)を有し、その際テストゾンデは測定増幅器と結合できるかまたは結合されている、培養基中に存在する少なくとも1つの生物細胞の状態量を測定するための装置に関する。

【0002】

【従来の技術】書籍Physiologie des Menschen、シュミット(Schmidt);Thews(発行者)、23版(1987年)、20～21

ページから既に、吸引装置と結合した内部空洞を有する中空針を有し、該空洞が中空針の自由端に開口を有する冒頭に記述した種類の装置が認められる。中空針の内部空洞中には、細胞の細胞電位を測定するためのテストゾンデが配置されている。このいわゆるパッチークランプ法(Patch-Clamp-Verfahren)により作業する装置においては、中空針は測定電極を細胞の細胞液と接触させるために、中空針の自由端に存在する開口を外側から細胞膜に当接し、吸引装置により中空針の内部に減圧を発生させる。この減圧により、中空針の開口の前に存在する細胞膜片が膜複合体から剥離される。その際生じる細胞膜中の孔により、細胞液中に存在するイオンは中空針内に存在する電解液に入り、ここからテストゾンデに到達する。参照電極は、参照電位を確かめるために使用される。

【0003】公知方法および相応する装置は、細胞に中空針を位置決めするためにマイクロマニピュレーターが必要であるという欠点を有する。これにより、比較的複雑で高価な装置が生じる。さらに、マイクロマニピュレーターによる載物台上に存在する細胞の接近性は強く制限される。従って、これらの方法および装置は、個々の細胞または場合により載物台上に存在する少数の細胞の同時検査のために適当であるにすぎない。

【0004】US4461304号から、細胞膜に孔をあけるための針状先端を有する装置は公知である。先端には、神経生理学的検査のための多数のセンサーが配置されている。この装置においても、細胞に先端を位置決めするためにマイクロマニピュレーターが必要である。

【0005】EP0689051A2号、DE19712309A1号、DE19529371C2号およびEP0585933A2号から既に、検査すべき細胞の細胞膜の外表面と結合させることのできる多数のマトリックス状に配置されたマイクロ電極を有する載物台を有する細胞電位測定装置が認められる。しかしこれらの装置は、細胞膜に孔はあけられないので、細胞電位の細胞外測定を可能にするにすぎない。

【0006】DE19536389A1号およびDE19536384A1号から既に、生物成分と接触する、状態量を測定する方法も公知である。この方法においても、生物成分に孔はあけられない。

【0007】さらにDE3816458A1号には、生化学および医学的領域において電位差滴定または電流滴定測定のために使用することのできるマイクロ電極が記載されている。

【0008】DE4422049C2号は、基板上に幾つかの角錐または円錐形の電極先端を有する化学および生化学分析のための超マイクロ電極アレイを開示する。特許明細書の記載によれば、超マイクロ電極アレイはクラークによる酸素測定のための電極本体中に使用される。

【0009】さらにUS5173158A号からは、流体中に存在する第一の種類の細胞を減圧または静水圧により多孔性層の支持範囲に、細胞が部分範囲で多孔性層の細孔に係合するように堆積させる、新しい細胞を生成するための部類の異なる方法が公知である。細胞を有する多孔性層は流体に接する電極板の間に配置され、電極板に電圧を印加し、細胞が細孔に係合する細胞膜の部分範囲に孔をあける。その後、この孔を通して第二の種類の細胞が第一の種類の細胞の内部に挿入される。

【0010】

【発明が解決しようとする課題】従って、細胞の状態量の簡単な測定を可能にする冒頭に記述した種類の方法および装置を提供する課題が生じる。殊に、検査すべき細胞に対する中空針の費用のかかる手作業による位置決めは避けられるべきである。

【0011】

【課題を解決するための手段】この課題の解決は、方法に関しては、孔を細胞の支持範囲内に、その縁から間隔を置いて細胞膜に明け、この孔を通して状態量を測定することを要旨とする。

【0012】これにより、細胞膜に孔をあけるために使用されるポレーション手段(Porationsmittel)またはポレーション工具を載物台上の細胞の支持範囲に配置することが可能であり、それで細胞は支持範囲に堆積する際同時にポレーション手段またはポレーション工具に対しても位置決めされている。これにより、ポレーション工具の費用のかかる手作業による位置決めは省略することができる。孔は細胞の支持範囲内に、支持範囲の縁から間隔を置いて細胞膜に明けられるので、孔を囲む、支持範囲に付着する細胞の膜範囲は孔を培養液に対して密封する。これにより、細胞の内部に存在する細胞液は培養液に対して電気的に十分に絶縁されている。測定される細胞の状態量は、たとえばイオン濃度、ガス含有量、温度または細胞の任意の他の物理的、化学的または生物学的性質であってもよい。

【0013】細胞の細胞電位を測定するために、細胞の細胞膜に明けられた孔を通して細胞液および培養基の間の電圧を測定することができる。この方法を用いて、たとえば神経細胞の間で伝達される電気信号を調べることができる。この方法を用いて、電気直流電圧電位および/または向流電圧電位、殊に時間的に急速に変化する電位を測定することができる。

【0014】本発明のとくに有利な実施形では、孔を電気ポレーション(Elektroporation)により細胞膜に明け、方法の実施の際には、たとえば電気ポレーション電極を、細胞が付着堆積する細胞の支持範囲に配置することができる。その際、細胞膜に孔をあけるためには電気ポレーション電極および培養基の間に、細胞膜に孔をあける電流の流れを惹起する電圧を印加するだけでよい。電気ポレーション電圧を切断した

後、細胞膜の孔を通して細胞液および培養基の間の電圧を測定することができる。その際、場合により電気ポレーションのために使用される電極を、細胞電位の測定のためにも使用することができ、それで電極に二重機能を与える。

【0015】本発明の他の実施形においては、細胞膜に孔をあけるために細胞膜の部分範囲に少なくとも1つの機械的パルスをかける。その際、細胞膜のこの部分範囲が膜複合体(Membranverbund)から剥離する。場合により、幾つかの単一パルスを有するパルス列を適用することもできる。

【0016】孔を超音波により細胞膜にあける場合がとくに有利である。その際むしろ、超音波を細胞膜の孔をあけるべき範囲に集束しおよび／または幾つかの超音波を、その振動が細胞膜の孔をあけるべき範囲において増加した振幅を有する1つの振動に重畳するように重畳させることが可能である。これにより、細胞膜は接触せずに孔をあけることができる。

【0017】細胞膜の無接触孔あけは、細胞膜の部分範囲を高エネルギー放射線、殊にレーザー光線で照射する方法で行うこともできる。その際放射線の波長は、細胞膜が放射線を良好に吸収するように選択される。有利には、放射線を細胞の支持範囲でこれに入射させる。場合によりレーザー光線を支持範囲外で、そこに存在する膜範囲に差し当たり小さい入射孔をあけ、この孔によりレーザー光線を引き続き細胞の内部を通して細胞の支持範囲に存在する膜範囲に集束し、ここでレーザー光線を入射孔の周りで旋回させることにより膜の部分範囲を膜複合体から切取ることにより、細胞に入射させることもできる。

【0018】方法の他の実施形において、孔を化学物質の作用により細胞膜にあける。ポレーション手段としては、たとえばパーホリン(Perforin)またはトライトン(Triton^(R))を使用することができ

る。

【0019】電気的および／または化学的および／または放射線により活性化しうる化学物質を使用し、この物質を細胞膜に孔をあけるために放射線および／または電界の作用により活性化する場合が特に有利である。この物質はエネルギー供給によっても活性化される。その際、たとえば遊離基を発生させ、細胞膜の孔をあけるべき部分範囲を破壊することもできる。不活性状態においては、この物質は細胞に対して十分中性に挙動するので、該物質は支持範囲に細胞が堆積するのに実際に影響を与えない。他の物質の添加により化学的に活性化される化学物質を使用することもできる。

【0020】方法の他の実施形は、細胞膜の孔あけすべき部分範囲を減圧および／または加圧での衝撃により膜複合体から剥離することを配慮する。このため、たとえば支持範囲を有する載物台中で支持範囲内に小さい孔を

設けて、この孔により細胞を、孔の前に存在する膜範囲が膜複合体から剥離される程度に強く吸い込むこともできる。細胞膜の孔あけのために、孔を通して減圧パルスを細胞の膜範囲にかけることもできる。

【0021】細胞を吸引力により支持範囲に固定するのが有利である。これにより、載物台の支持範囲に対する細胞の付着を改善することができる。その際吸引力は、細胞膜が吸引力により損傷されないように規定されている。

【0022】細胞膜に孔をあけた後、孔を通して細胞液を細胞から取出し、検査する場合が有利である。これにより、細胞の内部では殆ど測定できない付加的細胞量を検出することが可能である。それで、細胞の生理学に関する補助的情報を得ることができる。

【0023】細胞膜に孔をあけた後、孔を通して細胞内操作を実施する、殊に薬剤および／または異物および／または生物学的物質を細胞の内部に入れる場合がとくに有利である。その際、細胞内操作の作用は細胞の状態量の測定により観測することができる。場合により細胞内操作は、細胞の状態量を孔を通して測定することなしに実施することもできる。

【0024】装置に関しては、上述した課題の解決は、支持範囲内にテストゾンデおよびこれを囲む電気絶縁体が、細胞が絶縁体に培養基に対して密封的に堆積しうるように配置され、細胞の細胞膜の孔あけのためにテストゾンデの範囲内に少なくとも1つのポレーション工具が支持範囲に配置されていることを要旨とする。

【0025】ポレーション工具は支持範囲内に配置されているので、細胞は自主的に収容範囲内に存在するポレーション工具上に堆積しうる。有利に、これにより細胞に対するポレーション工具の費用のかかる手作業による位置決めを省略することができる。また、たとえばマイクロマニピュレーターのような補助装置も必要でない。これにより、幾つかの密に互いに隣接して支持範囲に配置された細胞につき同時に細胞量を測定することが可能である。細胞膜に孔をあけた後、孔を圍繞する細胞膜の縁は電気絶縁体と接触したままであり、孔を培養基に対して密封する。これにより、細胞の内部に存在する細胞液は培養基に対して電気的に良好に絶縁されているので、細胞量を細胞膜の孔を通して測定することができる。

【0026】ポレーション工具が大体において同心にテストゾンデの周りに配置されている場合が有利である。その際、テストゾンデは、細胞膜に孔をあけた後とくに良好に細胞の内部に存在する細胞液と接触することができる。

【0027】細胞の細胞電位の測定のために配慮されている実施形においては、テストゾンデは培養基と接触せしめる少なくとも1つの参照電極が所属している測定電極である。かかる装置を用いて、細胞液および培養基の

間の電位差を簡単に測定することができる。

【0028】測定電極が、細胞の細胞膜の電気ポレーションのため電圧源と結合できる電気ポレーション電極であり、電気ポレーション電極が支持範囲内に配置された、電気絶縁体により囲まれている少なくとも1つの活性電極範囲を有する電圧源と結合しうる場合がとくに有利である。測定電極は同時にポレーション工具でもあり、それで二重機能を果たし、これによりとくに簡単に構成された装置が生じる。このため、測定増幅器に接続された電極はたとえば電子スイッチにより短時間に電圧源の電位にすることができる。場合により、測定電極を選択的に順次に測定増幅器または電圧源に結合することのできる切替スイッチが設けられていてもよい。測定電極および電気ポレーション電極は、載物台の支持範囲内に配置されているので、絶縁体に付着堆積された細胞は場合により電極の活性電極範囲に堆積することができるかまたは少なくとも電極から発する電界の作用範囲に入るまで電極に接近することができる。電極に電気ポレーション電圧を印加する場合に流れる電流が細胞膜に孔をあける。その際、孔を圍繞する細胞膜の縁は電気絶縁体と接触したままであり、孔を培養基に対して密封する。絶縁抵抗は細胞の型に依存し、とくに10メガオームよりも大きい。これにより、培養基および細胞液の間の電位補償は十分に阻止される。細胞膜に孔をあけた後、測定電極は電気ポレーション電圧源から分離され、その際細胞電位は細胞液と接触している測定電極に存在し、測定増幅器により測定することができる。装置は簡単な構造を有し、十分に自動的な細胞電位測定を可能にする。

【0029】本発明の有利な実施形においては、ポレーション工具が、細胞の細胞膜の電気ポレーションのため電圧源と結合しうる、テストゾンデから距離を有する電気ポレーション電極であり、電気ポレーション電極は支持範囲内に配置され、電気絶縁体により囲まれた少なくとも1つの活性電極範囲を有することが配慮されている。電気ポレーション電極はテストゾンデからも分離されている。これにより、テストゾンデで確かめられた測定信号に対する電圧源から電気ポレーション電極へのリード線の容量の影響は減少する。それで、たとえば神経細胞において生じるような細胞電位の急速な変化をなお良好に測定することができる。

【0030】本発明のとくに有利な構成においては、電気ポレーション電極の活性電極範囲は少なくとも1つの鋭い先端または縁を有し、とくに支持範囲の表面の平面（Oberflächenebene）に対して突出配置されていることが配慮されている。それで活性電極範囲は、支持範囲に堆積した細胞の細胞膜に外側から接触することができる。これにより、電極および細胞膜の間の良好な電氣的接触が可能になる。さらに上記の活性電極範囲は、細胞膜の孔を通して細胞の内部に存在する細胞液に対する良好な電氣的接触を可能にし、さらに電

気ポレーションにより細胞膜にあけられた孔が細胞補修機構により閉じるのを妨害する。

【0031】電気ポレーション電極が、支持範囲の表面に開口を有する内部空洞を有する中空電極として構成され、測定電極が電気ポレーション電極の内部空洞中に配置され、その自由端がとくに内部空洞の開口にまで達する棒電極である場合が有利である。中空電極の内部には、たとえば培養基に相応しうる電解液が配置されていてもよく、それで細胞壁に孔をあけた後細胞液中に含有されている荷電粒子、殊にイオンはこの電解液を通して電極に到達することができる。それで、大きい電極表面が荷電粒子と接触しうる。これにより、測定電極および細胞液の間の電気接触は改善される。

【0032】電気ポレーション電極に直接隣接してスイッチ素子、殊に半導体スイッチが配置されていて、該スイッチで電気ポレーション電極が電気ポレーション電圧源と結合できる場合がとくに有利である。その際、電気ポレーション電極および電気ポレーション電圧源の間の結合線は電極に密に隣接して中断することができるので、この結合線の寄生的容量は細胞電位測定の間テストゾンデから減結合されている。これにより、時間的に急速に変化する細胞電位電圧を正確に測定することができる。とくに、半導体スイッチは雑音の少ない接合電界効果トランジスタである。

【0033】装置の有利な実施形においては、細胞の細胞膜の孔あけのためにポレーション工具は少なくとも1つのアクチュエーター、殊にピエゾ素子により支持範囲の表面に対し横に、載物台に関して可動である。この装置においては、孔は機械的にも細胞膜にあけられる。その際、ポレーション工具はむしろ選択的に細胞膜に接近およびこれから遠ざけることができる。この目的のために、アクチュエーターは超音波を発生させるため起動装置と結合されていてよい。ポレーション工具は、支持範囲の表面に対し直角または斜めに延びる方向に、載物台に関して可動であってもよい。

【0034】ポレーション工具が少なくとも1つの、細胞の細胞膜と接触させうる鋭い先端または縁を有する場合が有利である。その際、細胞膜にはポレーション工具の運動により良好に孔あけすることができる。

【0035】テストゾンデが同時にポレーション工具でもあり、このためアクチュエーターまたはピエゾ素子により支持範囲の表面に対し横に、載物台に関して可動である場合がとくに有利である。その際、テストゾンデは二重の機能を果たし、これにより補助的ポレーション工具を節約することができる。

【0036】他の有利な実施形においては、載物台はテストゾンデの範囲内に、細胞膜の孔あけのためにレーザー光線の光路中に配置されている光学的窓を有する。この装置を用い、細胞膜の部分範囲を短時間高エネルギー放射線で照射することができ、その際部分範囲は強く加

熱されて細胞膜に孔があげられる。

【0037】レーザー光線を発生させるために載物台中にレーザーダイオードが組込まれている場合がとくに有利である。その際、レーザーダイオードはむしろ孔の直接背後に配置されていてもよく、それでレーザー光線は直接に、それで十分にロスなしに、支持範囲に堆積した細胞の細胞膜に入射させることができる。

【0038】有利には、テストゾンデは大体において同心に光学的窓の周りに配置されている。その際、テストゾンデは細胞膜の孔あけ後良好に細胞液と接触することができる。

【0039】有利な実施形においては、ボレーション工具は細胞の細胞膜の孔あけのために化学物質および／または供給路と結合した少なくとも1つの、化学物質用出口孔を有することが配量されている。孔は化学的に細胞膜にあけることもでき、その際ボレーション手段としてたとえばパーフォリン(perforine)またはトライトン(Triton^(R))を使用することができる。

【0040】他の実施形においては、ボレーション工具は支持範囲に開口する少なくとも1つの通路を有し、これにより細胞の細胞膜の部分範囲を細胞膜に孔をあけるために減圧および／または加圧で衝撃できる。かかる装置においては、孔は減圧または加圧により細胞膜にあけられ、その際減圧ないしは加圧は、細胞膜の孔あけ後に切断される。これにより、減圧による細胞膜の孔あけの場合細胞の内部からの細胞液の吸出しは十分に避けられる。相応に、加圧による細胞膜の孔あけの場合、通路中に存在するとくに流体である媒体が細胞の内部へ進入しうることが避けられる。減圧ないしは加圧を切断するために、たとえば細胞膜の孔あけの際に通路中に出現する圧力変化を確かめることができる。減圧ないしは加圧は、適当な補助装置、たとえばポンプを用いるかまたは静水圧的に発生させることができる。有利には通路を、細胞が堆積する前に、培養基を支持範囲から吸引するために利用することができ、それで培養基中に流れが生じ、その中に存在する細胞を測定電極の範囲内に配置された通路の開口に導く。

【0041】テストゾンデが載物台の表面に差込まれた、少なくとも1つの内部空洞を有する中空ゾンデとして構成され、内部空洞が支持範囲の表面に開口を有する場合がとくに有利である。中空電極の内部には電解液が配置されていてもよく、それで細胞液中に含有されている荷電粒子は細胞膜の孔あけ後電解液を通してテストゾンデに到達することができる。それで、テストゾンデの大きい表面は荷電粒子と接触することができ、これが測定電極および細胞液の間の電気的接触を改善する。

【0042】有利な1実施形は、電気絶縁体が支持範囲内でその表面の平面に対して突出する突出部を有し、テストゾンデは支持範囲の表面に離反する突出部の自由端

に配置されていることを配慮する。これにより、テストゾンデおよび細胞膜の間の良好な電気的および／または機械的接触が生じる。

【0043】有利には、突出部の横断面は支持範囲の表面から出発して最遠突出個所に向かって先細になることを配慮する。その際、細胞はその膜が良好に電気絶縁体の突出部に付着する。さらに、絶縁体は載物台の製造の際にコーティングとして製造技術的に良好に突出部の先細になる範囲上に塗布することができる。

【0044】本発明の有利な構成においては、載物台は支持範囲内に、テストゾンデを圍繞する少なくとも1つのならい削りくぼみ(Profilierungsvertiefung)および／またはテストゾンデを圍繞するならい削り突出部(Profilierungsvorsprung)を有することが配慮されている。これにより、絶縁体に付着する細胞膜により、培養基に対する細胞液の良好な密封が達成される。

【0045】ならい削りくぼみおよび／またはならい削り突出部が伸長方向に少なくとも1つの中断部により中断されている場合が有利である。その際細胞は、ならい削り部の範囲内で良好に載物台の表面に付着することができる。ならい削り突出部ないしはならい削りくぼみは、たとえばハニカム構造または格子縞模様またはチェス盤模様の種類による構造を有することができる。

【0046】ならい削りくぼみおよび／またはならい削り突出部がリング状に構成され、とくに幾つかのかかるリング状ならい削りくぼみおよび／またはならい削り突出部がテストゾンデに対して大体において同心に配置されている場合がとくに有利である。それで、テストゾンデに対し半径方向に幾つかのならい削りくぼみおよび／またはならい削り突出部が直列に接続されるかないしは互いに入り組んでいるので、細胞液は培養基に対してなお良好に密封されている。

【0047】本発明の好ましい1実施形は、絶縁体があるならい削り部の表面に配置された絶縁層であることを配慮する。有利には、このようにならい削り絶縁層は絶縁体の表面において細胞液から培養基へ流れる漏れ電流の通路を拡大するので、テストゾンデないしは測定電極は培養基に対してなお良好に絶縁されている。

【0048】他の実施形は、1以上のならい削り突出部が絶縁体の表面に設けられていることを配量する。この場合、載物台は製造技術的に簡単に製造できる。

【0049】載物台の支持範囲内でその表面に少なくとも1つの細胞付着タンパク質を有するコーティングおよび／または親水性コーティングが配置されている場合がとくに有利である。この場合、細胞の細胞膜は載物台に良好に付着する。細胞付着コーティングは、たとえばラミニン(Laminin)、フィブロネクチンまたはポリ-L-リシンを有することができる。場合により、電極に隣接する支持範囲の縁に、細胞膜中に存在する疎水

性脂質の結合個所を有する疎水性コーティングが配置されていてもよい。

【0050】細胞の機械的案内として、テストゾンデの両側に、とくに溝状の案内路を限る制限壁が配置されている場合が有利である。その際、1以上の測定電極はとくに同心に制限壁の間で案内路の溝底に配置されているので、案内路中に存在する細胞は大体において案内路の伸長方向にのみ移動することができ、その際強制的にテストゾンデと接触する。

【0051】本発明のとくに有利な構成においては、テストゾンデに隣接して、電界効果トランジスタ(FET)、殊に接合電界効果トランジスタ(J-FET)が配置され、テストゾンデは測定信号のインピーダンス変動のためFETのゲートと結合している。この場合、ゲートへの測定電極の結合は金属酸化電界効果トランジスタ(MOS-FET)において容量性に行われ、その際測定電極はとくに、載物台の表面に差込まれたMOS-FETのゲートの直接上方に配置されている。有利に、接合FETは細胞内電気信号の、高オームにも拘わらず騒音の少ない出力結合(Auskopplung)を可能にする。接合FETの低い入力容量は、殊に速い細胞電位変化の場合でも十分に帰還不含の測定信号取得を可能にする。直接測定個所におけるインピーダンス変動により、測定電極から測定増幅器および／または評価装置への結合線に対する遮蔽費用を減少させることができる。さらに、結合線における寄生容量(parasitäre Kapazitäten)による測定信号の影響が減少する。さらに、公知の半導体技術的製造方法で製造できる電界効果トランジスタは高い積分密度を可能にする。

【0052】載物台の支持範囲内でテストゾンデに隣接して、とくにこの囲まれた範囲内に少なくとも1つの流体路が開口している場合が有利である。この場合、この流体路により細胞膜の孔あけ後に少量の細胞液を吸引しおよび／または生物物質、たとえば遺伝子および／または異物、薬剤または細胞に対する作用を調べるべき類似物を細胞液に添加することができる。1種の物質の添加のために、装置は場合によりテストゾンデなしに使用することもできる。

【0053】有利に、流体路の経過中にとくにとくに載物台中に組込まれたマイクロポンプが配置されている。場合により、流体路に幾つかのマイクロポンプが所属されていてよく、これらのポンプはたとえばその都度細胞学的に調べるべき液体または媒体を保管するための載物台中に存在するキャビティーと結合されていてよい。

【0054】流体路内、とくに流体路の壁に、細胞の細胞量を測定するため少なくとも1つのマイクロセンサーが配置されている場合がとくに有利である。これにより、たとえばイオン濃度、ガス含有量、酵素および／またはタンパク質の濃度のような付加的細胞内パラメータ

ーを確かめることができる。

【0055】細胞をテストゾンデに導く電界を発生させるために支持範囲内および／またはそれに隣接して少なくとも1つの補助電極が配置されている場合が有利である。これにより、載物台の表面に、その誘電率が細胞の配置されている培養基の誘電率とは異なる生物細胞に対して細胞をテストゾンデに導く力をかける電界を発生させる場合が有利である。

【0056】本発明の特に有利な構成は、支持範囲内に幾つかのテストゾンデおよび電気ポレーション電極がとくにアレイ(Array)として配置され、これらのテストゾンデにその都度少なくとも1つのポレーション工具が配置されていることを配慮する。かかる装置は、1つの細胞集団につき細胞電位の位置分析測定を可能にする。その際、多数の互いに密に隣接した細胞につき同時に細胞電位を測定することができる。これによりたとえば、神経細胞または腫瘍細胞につき、電気的活動を監視するために、いわば静的細胞膜電位測定を実施することが可能である。その際むしろ、シナプスにより結合した神経細胞を有する細胞複合体中で、細胞間の情報伝達を細胞電位の位置および時間分析測定により監視することが可能である。場合により載物台中に、多数の測定電極および／または電気ポレーション電極を選択的に順次に測定信号導線と結合できるマルチプレクサが組込まれていても良く、これによりセンサーチップとして構成された載物台へのリード線の数が増加する。

【0057】次に、本発明の実施例を図面につき詳述する。

【0058】

【実施例】全体を1で示した、培養基2中に存在する生物細胞3(図11)の細胞電位の測定装置は、細胞3が付着堆積する支持範囲5を有する載物台4を有する。細胞3は、載物台4上にも固定されていて、支持範囲5に付着する。図1および2ならびに5～17による実施例においては、載物台4は支持範囲5内に測定および電気ポレーション電極6/7を有し、この電極は支持範囲5の表面の平面に対し突出する活性電極範囲8を有する。支持範囲5には、活性電極範囲を囲む電気絶縁体が配置され、該絶縁体に細胞3が培養基2に対して密封堆積可能である。

【0059】図1、5、7および11による実施例においては、電極は載物台中に組込まれた案内路10により、電極を選択的に測定増幅器および電気ポレーション電圧源と結合できる切替スイッチ11に接続されている。細胞電位を測定するために、電極6/7を差し当たり細胞3の内部に存在する細胞液と接触させる。このため、電極6/7および培養基2の間に、電極6/7を切替スイッチ11を介して電気ポレーション電圧源と結合することにより電圧を印加する。その際、電極6/7を経て電流が細胞膜中へ流れ、これにより電極6/7の範

図内に細胞膜に孔があげられ、活性電極範囲8はこの孔を通して細胞3中へ侵入する。その際、電極6/7は細胞液と接触する。細胞膜に孔をあけた後、電極6/7は測定増幅器12の入口と結合される。測定増幅器12の出口は、接続接点13と結合している。もう1つの接続接点14は、培養基2と導電的に接触している参照電極15と結合している。接続接点13および14の間の電圧は、細胞3の細胞電位の尺度である。接続接点13および14には、たとえば表示装置および/または評価装置を接続することができる。細胞3中に電気ポレーション電極6/7によりあけられた孔は、電極を囲繞する、載物台4に付着する細胞膜範囲により培養基2に対して密封されている。これにより、電極6/7の電位および培養基2の電位の間の電位補償は阻止される。

【0060】図1、9～11および13による実施例においては、電極6/7はほぼ円錐形に構成されていて、その際支持範囲の表面の平面に対して突出する活性電極範囲8は円錐の先端に配置され、鋭い先端として構成されている。これにより、電極6/7に電気ポレーション電圧を印加する場合、活性電極範囲8に特に高い電界強度が生じる。

【0061】図5～8による実施例においては、電極6/7は中空電極であり、その活性電極範囲8が支持範囲5の表面から突出し載物台4の表面に差込まれている。その際、図5による電極6/7は大体において円錐台形に構成され、図7による電極6/7は大体において円筒形スリーブとして構成されていて、その際電極6/7の対称軸はその都度載物台4の表面の平面に対しほぼ直角に支持範囲5に配置されている。中空電極は培養基2で充填され、支持範囲5の表面に開口を有する内部空洞16を有する。細胞膜孔に配置された電極6/7の場合、この開口を通して荷電粒子が細胞液から内部空洞16中に入り、内部空洞16に接する電極6/7の内壁と接触する。図1による実施例に比べて、これによってより大きい測定電極表面が生じ、これにより電極6/7および細胞液の間の電気接触抵抗が減少する。

【0062】図5および7からとくに良好に認めうるように、開口を囲む電極6/7の自由端は鋭い環状縁を有し、その横断面は尖端として構成され、載物台の表面の平面から出発し電極6/7の最遠突出個所に向け先細になる。これにより、電気ポレーション電極6/7に電圧を印加した場合、活性電極範囲8内に、細胞膜の孔あけを容易にする比較的高い電界強度が生じる。

【0063】図3および4による実施例においては、載物台4の支持範囲5に測定電極6およびそれから分離された電気ポレーション電極7が配置されている。電気ポレーション電極7は、支持範囲5に付着する細胞の細胞膜に孔をあけるために、載物台4中に組込まれた導体路17により電気ポレーション電圧源と結合している。もう1つの導体路18は測定電極6を測定増幅器の入口と

結合する。その他の点では、構造は図5による載物台に十分に一致する。電気ポレーション電極7はほぼ円錐台の形を有し、円筒形の内部空洞を有し、その円筒軸はほぼ円錐台の対称軸と一致する。電気ポレーション電極7の自由端に、内部空洞は載物台4の表面に通じる開口を有する。測定電極6は、電気ポレーション電極7の内部空洞中に配置され、その自由端が内部空洞の開口にまで達する棒電極として構成されている。測定電極6を電気ポレーション電極7の寄生容量およびそのリード線により減結合しおよび測定電極6および電気ポレーション電極7の間の電気抵抗を増大するために、内部空洞を限る電気ポレーション電極7の内壁上に、内部空洞6中に存在する細胞液を電気ポレーション電極7に対して電氣的に絶縁する絶縁層19が配置されていてもよい。

【0064】なお、測定電極6および/または内部空洞16を限る測定および電気ポレーション電極6/7の壁は、電極の表面を拡大する表面粗さを有することができることを述べねばならない。電極6/7は、たとえば多孔性シリコンからなるかまたはこの材料からなるコーティングを有することができる。

【0065】図1～10にとくに良好に認めうるように、電気絶縁体9は支持範囲5内にその表面の平面に対し突出する突出部20を有し、その表面の平面に離反する自由端に電気ポレーション電極7の活性電極範囲が配置されている。これにより、活性電極範囲8は支持範囲に付着する細胞3に良導電的に結合されている。突出部20の横断面は、支持範囲5の表面の平面から出発して最遠突出個所に向け先細になる。これにより、突出部20および電極6/7は製造技術的に良好に製造できる。さらに、先細になる突出部20は良好な機械的強度を有する。

【0066】しかし、突出部20はその伸長方向に一定の横断面を有するかまたは支持範囲5の表面の平面から出発して最遠突出個所に向け減少する横断面を有することもできる。かかる突出部20は、たとえばLIGA技術により製造することができる。

【0067】なお、載物台4は大体においてプレート状の基板21を有し、基板はたとえば半導体材料（たとえばシリコンまたはヒ化ガリウム）、炭化ケイ素、ガラスまたはプラスチックからなっていることもよいことを述べねばならない。この基板上に、絶縁体9がたとえばスパッタリングによりコーティングとして設けられていてもよい。場合により、基板21はたわみ性シートであってもよい。

【0068】図11～18による実施例においては、載物台4は支持範囲5にその都度幾つかの、電気ポレーション電極7を囲繞するなら削りくぼみ22を有する。図11から良好に認めうるように、これにより載物台4の支持範囲5に対する細胞の細胞膜の密封が改善される。

【0069】図11～14による実施例においては、ならい削りくぼみを閉じる環状溝が電気ポレーション電極7に対し同心に配置されている。環状溝は、その都度長方形の横断面を有する。互いに隣接する環状溝は、その都度互いにほぼ等間隔に配置されている(図12)。互いに隣接するならい削りくぼみ22の間隔およびこのならい削りくぼみ22の深さは、支持範囲5に堆積すべき細胞3の型に適合されている。ならい削りくぼみ22の縁は、細胞3の付着堆積を容易にするため、丸められていてもよい。

【0070】ならい削りくぼみ22は、格子縞構造の例につき図15に、ハニカム構造の例につき図16に示したように、その経過中に中断部を有することができる。図14～16による表面のならい削り部、表面粗さおよび表面材料は、その都度特定の細胞型に適合されている。これにより、細胞の付着を改善するかまたは制御することができる。

【0071】図11および18による実施例においては、表面のならい削り部はコーティングとして半導体技術の方法で電気絶縁体9上に設けられている。これにより、載物台4は半導体チップとして簡単に製造できる。表面のならい削り部は他の、たとえば厚膜技術における方法で絶縁体9上に設けることもできる。図13による実施例においては、表面のならい削り部は、基板21上に設けられ、絶縁体9を形成する絶縁層により被覆されている層である。この手段により、電気ポレーション電極7から絶縁体9の表面に沿って培養基2に流れる場合により可能な漏れ電流を弱めることができる。これにより、支持範囲5に細胞3が堆積した場合、電極6/7および培養基2の間の相応に高い電気抵抗が生じる。

【0072】図13に示した表面ならい削り部の製造はたとえば、基板21上にマスキング技術によりリング構造を設け、引き続き絶縁層で被覆する方法で行うことができる。この場合、ならい削り部は図11による実施例と比べて若干丸められた縁を有する。その際、細胞3は良好に堆積しうる。

【0073】図18による実施例においては、電極の両側に、絶縁体9と一緒に横断面がほぼU字形の案内溝41を形成する制限壁40が配置されている。その際、ならい削り部22および測定電極は制限壁40の間で案内溝41の底に配置されている。制限壁40は、案内溝41中に存在する細胞3に対する、細胞が克服できないかまたは容易には克服できない障害物を形成する。これにより、細胞3は大体において案内溝の伸長方向にだけ移動でき、その際細胞は強制的に測定電極と接触する。測定電極6の両側に配置された制限壁40の内径距離は、細胞3の寸法に適合され、とくに細胞3の細胞直径よりも若干大きく選択されている。場合により、幾つかの測定電極6が案内溝41の伸長方向に直列に配置されている。これにより、いくつかの細胞3につき同時に細胞電

位を測定することができる。案内溝41の横断面は伸長方向に先細になるかまたは拡張できる、つまり案内溝41は異なる個所に異なる幅および/または異なる横断面の寸法を有することができる。案内溝41の最深個所から出発して最遠突出個所に、案内溝41の横断面はたとえば先細になることができる。

【0074】図9による実施例においては、載物台4の基板21中に接合電界効果トランジスタ(J-FET)23が組込まれている。J-FETのゲートの直接上方には、測定—および電気ポレーション電極6/7が配置され、該電極はゲートと導電的に結合している。補助的ゲート電極30は、案内路導電率の正確な制御を可能にし、これが動作点調節を可能にする。J-FET23のソース24およびドレーン25は、載物台4中に組込まれた導体路を介して評価装置と結合している。J-FET23は非常に低い雑音、高い入力インピーダンスならびに低い入力キャパシタンスを有し、細胞3から発した電気信号のインピーダンス変動を惹起する。J-FET23により、測定—および電気ポレーション電極6/7はソース24およびゲート25と結合した導体路の線路容量から十分に減結合されている。これにより、細胞電位信号の高周波信号成分を良好に測定することができる。

【0075】細胞膜の電気ポレーションのために、電気ポレーション電極7は載物台4中に組込まれた導体路17で電気ポレーション電圧と結合しうる。導体路17による電気ポレーション電圧の入力結合(Einkopplung)の代わりに、ソース24およびドレーン25に接続された導体路および場合により基板21を電気ポレーション電圧源と結合することにより、電気ポレーション電圧を容量性にJ-FET23のゲートを介して電極6/7に入力結合することもできる。この場合、導体路17は省略できる。

【0076】図20による実施例においては、J-FET23に密に隣接してスイッチングFET26が載物台4中に組込まれている。このスイッチングFET26のドレーン接続27は、電気ポレーション電圧源と結合し、ソース接続28は電極6/7と結合している。電極6/7に電気ポレーション電圧を印加するために、スイッチングFET26のゲートは、制御電圧を印加できる制御導線29と結合している。有利に、抑止されたソースドレーン結合では、電極6/7は電気ポレーション電圧源への接続線の漂遊容量および入力結合に対し十分に減結合されている。

【0077】図17による実施例においては、載物台4の支持範囲5に幾つかの測定電極および電気ポレーション電極6/7がアレイの形に配置されている。個々の電極6/7は、その都度デカルトの座標系(kartesische Koordinatensystem)のラスタ点に配置されている。これにより、支持範

図5に堆積した細胞集団の電気信号の位置分解測定が可能である。電極6／7は、他の方法で支持範囲5に、たとえば互いにずれた列または段でまたは自由に分配して、分配されていてもよい。

【0078】電極6／7上および間に、細胞3の成長を最適にするために、細胞の目的とする堆積を電極上および／または間でも可能にする案内構造が配置されていてもよい。案内構造はたとえば表面構造化、コーティングまたは相応するトポグラフィ形態を包含する。種々の細胞型または測定課題のために、互いに隣接する活性電極範囲8の間に種々の間隔が設けられていてもよい。

【0079】それで一括して、培養基2中の細胞3を支持範囲5に堆積させる、生物細胞3の細胞電位の測定方法が生じる。細胞3の支持範囲5内に、その縁から間隔を置いて細胞3の細胞膜に孔をあける。その際、孔を囲む、支持範囲5に付着する細胞膜の縁は細胞3の内部に存在する細胞液を培養基2に対して密封する。孔を通して、細胞液および培養基2の間の電圧が測定される。

【0080】図19による実施例においては、測定電極6および載物台4の間にピエゾ素子31が配置されていて、該素子はその載物台4に関して可動の自由端に測定電極6を有し、自由端に離反するその端部で、載物台4の基板21に固定されている。測定電極6は、図5および6による実施例におけるように、ほぼ円錐台形に構成されていて、円錐台の軸に沿って延びる大体において円筒形の内部空洞16を有する。この内部空洞は、ピエゾ素子31に離反する測定電極の自由端に、支持範囲5から遠ざかる鋭い縁32を有するリング状の電極範囲により囲まれている円形の開口を有する。ピエゾ素子31により、測定電極6の縁32をほぼ支持範囲5の表面法線方向に、載物台4に関し支持範囲5に堆積した細胞3に向けて接近およびこれから遠ざけることができる。その際、細胞膜のほぼ円板状範囲が細胞3の膜複合体から切出され、従って細胞3の内部に存在する細胞液はその際生じる孔を通して測定電極6と接触することができる。測定電極6の内部空洞16は、電解液で充填されていて、この電解液により細胞液中に含有されているイオンは、細胞膜に孔をあけた後、内部空洞16を限る測定電極6の内壁に到達することができる。これにより、細胞液および測定電極6の間の良好な電気接触が形成される。

【0081】支持範囲5に測定電極6を囲む電気絶縁体9が配置され、絶縁体は測定電極6の錐面を経てその鋭い縁32に密に接近している。支持範囲4に堆積した細胞3はその細胞膜で絶縁体9に付着し、その際細胞膜にあけられた孔を囲む細胞膜の縁が細胞3の内部に存在する細胞液を培養基2に対して電気的に絶縁密封する。細胞電位をタップで取出すために、測定電極6は載物台4中に組込まれた導体路18で測定増幅器と結合されている。培養基2と接触している参照電極15は、参照電位

を確かめるために使用される。導体路18および絶縁体9は弾性材料からなり、該材料が制御導線42を介してピエゾ素子を起動する際に測定電極6および載物台4の基板21の間の相対運動を可能にする。

【0082】図20による実施例においては、支持範囲5に堆積した細胞3の細胞膜に孔をあけるためにレーザーダイオード33が設けられ、該ダイオードは支持範囲5から考察して測定電極6中に設けられた光学窓34の背後に配置され、基板21中に組込まれている。レーザーダイオード33は、接続線37により電流供給一および制御装置と結合している。光学窓34は、測定電極6をほぼ支持範囲5の表面法線方向に貫通する通し孔として構成されている。レーザーダイオード33により、支持範囲5および測定電極6に堆積した細胞3の細胞膜の部分範囲をレーザー光線で照射することができ、該光線を細胞3の細胞膜が吸収する。これにより、細胞膜に孔があげられる。

【0083】孔をあけた後レーザー光線は切断され、それで孔を通して細胞電位を測定電極6により測定することができる。図19による実施例におけるように、測定電極6を囲む絶縁体9に付着する細胞3は、測定電極6を培養基2に対して密封する。

【0084】図21による実施例においては、支持範囲5に付着する細胞3に孔をあけるために外部レーザー35が設けられていて、その光線は、たとえば光学的光導体および／または転向ミラーならびに場合により集束装置を包含する光線案内装置36により測定電極6に離反する載物台4の背面で、基板21に設けられた光学窓および測定電極6を貫通する孔により細胞3に入射することができる。

【0085】図22による実施例においては、測定電極6の内部空洞16は、制御可能な減圧で衝撃できる流体路38と結合されている。このため流体路38はたとえばマイクロポンプに接続されていてもよく、該ポンプにより培養基2を載物台4の支持範囲5から吸引することができる。これにより、測定電極6における細胞3の堆積は容易になる。場合により、流体路38により測定電極6に吸込まれた細胞が堆積した後、なお特定の時間弱い減圧を細胞3に、細胞が自主的に支持範囲5に付着するまで加えることができる。

【0086】図19による実施例におけるように、内部空洞16の開口を囲む測定電極6の縁は、支持範囲5の表面の平面に対して突出するリング状の鋭い縁32を有する。測定電極6に細胞3が堆積した後、細胞3の細胞膜の部分範囲は、流体路38で培養基2を吸引することにより短時間、測定電極6の鋭い縁32により囲まれた細胞膜の膜範囲が膜複合体から剥離される程度に減圧で強く衝撃される。これにより、細胞膜に孔があげられ、この孔により測定電極6は細胞3の内部に存在する細胞液と接触することができる。孔をあけた後、流体路38

中の減圧は切断される。場合により、孔をあけた後なお少量の細胞液を細胞 3 の内部から流体路 3 8 中へ吸込むことができ、それで該細胞液は流体路 3 8 中で測定電極 6 に隣接して配置されたマイクロセンサー 3 9 と接触する。これにより、たとえば細胞液のガス含有量および／またはイオン濃度のような付加的細胞パラメーターを測定することができる。

【0087】細胞 3 の細胞膜に孔をあけた後、流体路 3 8 中に存在する物質、たとえば薬剤および／または蛍光染料を細胞膜の孔により直接に細胞内部に注入するために、流体路 3 8 に接続するマイクロポンプを短時間逆転させることができる。電極 6 に細胞 3 が堆積されていない場合、流体路 3 8 はさらに、培養基 2 に相応する物質を添加するために利用することができる。

【0088】図 1 8 による実施例においては、支持範囲 5 の表面の平面に対して突出する、先端として構成された測定電極 6 の自由端を取巻いてほぼリング状の範囲に、支持範囲 5 に堆積した細胞 3 と接触する際に細胞膜に孔をあける化学物質が固定されている。この孔を通して、測定電極 6 の先端は細胞 3 の細胞液と接触することができる。装置 1 はとくに簡単な構造を有する。

【図面の簡単な説明】

【図 1】載物台の支持範囲に配置され、切替スイッチにより選択的に電圧源および測定増幅器と結合できる測定一および電気ポレーション電極の縦断面図

【図 2】図 1 による測定電極の平面図

【図 3】測定および電気ポレーションのため別個の電極が設けられている、図 1 類似の縦断面図

【図 4】図 3 による測定一および電気ポレーション電極の平面図

【図 5】電極が円筒形の内部空洞を有する円錐台形の中空電極として構成されている、図 1 類似の縦断面図

【図 6】図 5 による電極の平面図

【図 7】電極が大体において円筒形を有する、図 5 類似の縦断面図

【図 8】図 7 による電極の平面図

【図 9】測定一および電気ポレーション電極が導電的に J - F E T のゲートに結合されている装置の縦断面図

【図 10】電極に隣接してスイッチとして使用される、電極を電気ポレーション電圧源と結合しうる他の電界効果トランジスタの図 9 類似の縦断面図

【図 11】培養基中に存在する生物細胞が付着堆積されている、電極を有する載物台を有する装置の縦断面図

【図 12】図 11 に示した載物台の平面図

【図 13】電極を取巻いて、電気絶縁層が設けられている表面構造化部を有する載物台の縦断面図

【図 14】図 13 による載物台の平面図

【図 15】載物台が他の表面ならい削り部を有する、図 14 類似の平面図

【図 16】同上平面図

【図 17】幾つかの測定一および電気ポレーション電極を有するアレイを有する載物台の平面図

【図 18】2 つの制限壁の間で表面構造化部内に配置された電極を有する載物台の縦断面図

【図 19】載物台の支持範囲に配置され、ピエゾ素子により可動の測定一および電気ポレーション電極の縦断面図

【図 20】載物台の支持範囲に配置され、光学窓を有する、背後にレーザーダイオード配置されている電気ポレーション電極の縦断面図

【図 21】レーザー光線が光学窓に入射する外部レーザーが使用される、図 20 類似の縦断面図

【図 22】電極を通して流体路が支持範囲に通じ、流体路の経過中に幾つかの測定ゾンドが配置されている図 5 類似の縦断面図

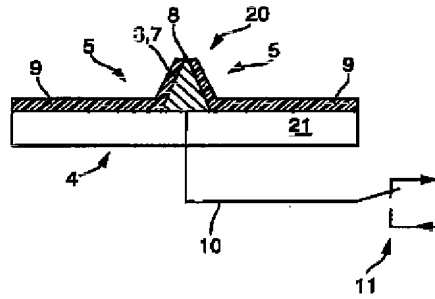
【符号の説明】

1	細胞電位の測定装置
2	培養基
3	細胞
4	載物台
5	支持範囲
6 / 7	測定一および電気ポレーション電極
8	活性電極範囲
9	絶縁体
10	導体路
11	切替スイッチ
12	測定増幅器
13	接続接点
14	接続接点
15	参照電極
16	内部空洞
17	導体路
18	導体路
19	絶縁層
20	突出部
21	基板
22	ならい削りくぼみ
23	J - F E T
24	ソース
25	ドレーン
26	スイッチ F E T
27	ドレーン接続
28	ソース接続
29	制御導線
31	ピエゾ素子
32	縁
33	レーザーダイオード
34	光学窓
35	外部レーザー
37	接続線

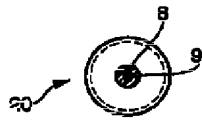
38 流体路
39 マクロセンサー
40 制限壁

41 案内路
42 制御導線

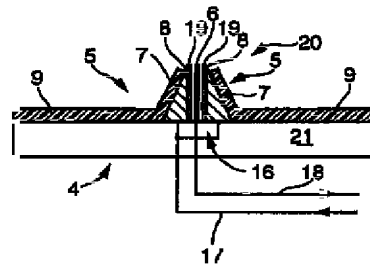
【図1】



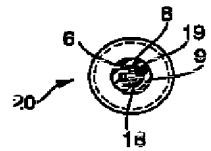
【図2】



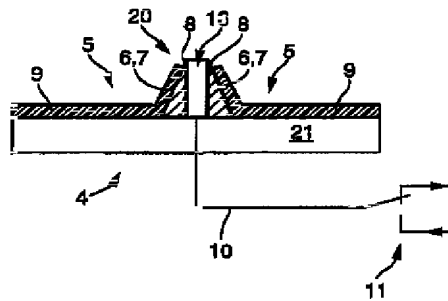
【図3】



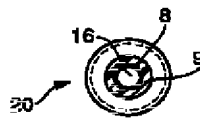
【図4】



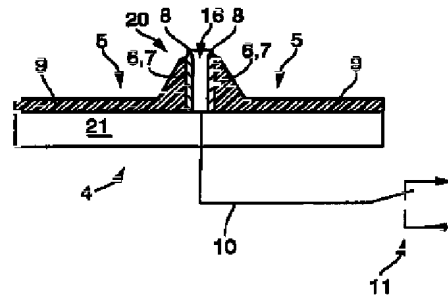
【図5】



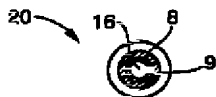
【図6】



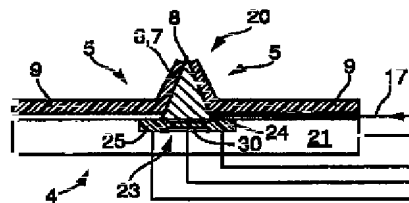
【図7】



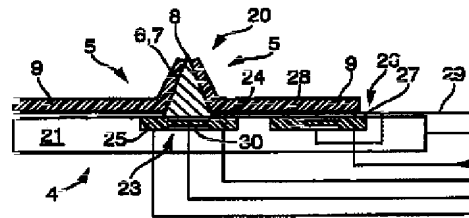
【図8】



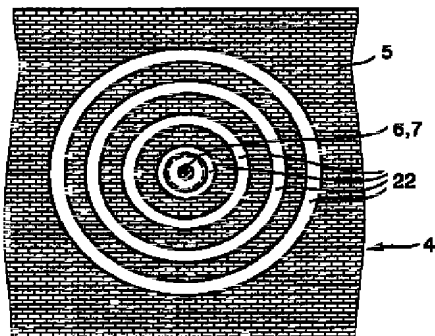
【図9】



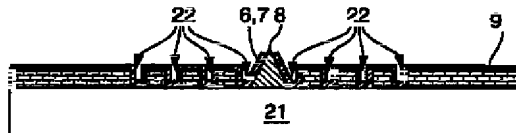
【図10】



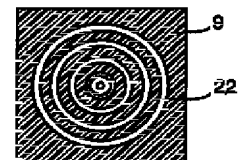
【図12】



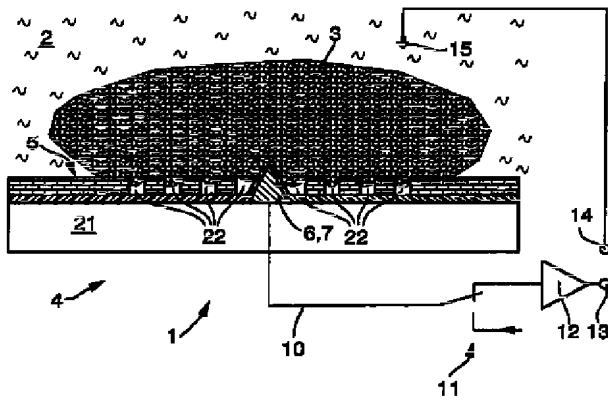
【図13】



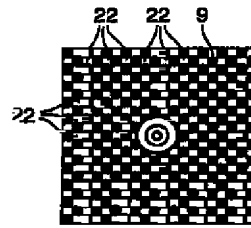
【図14】



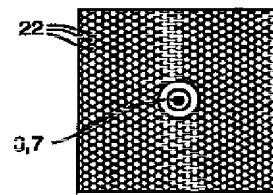
【図11】



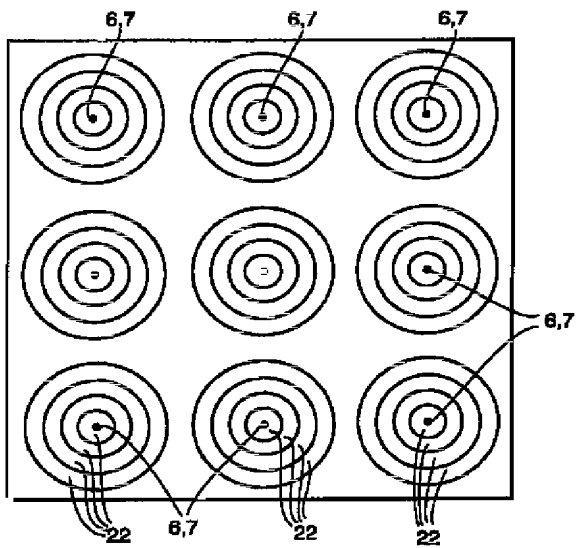
【図15】



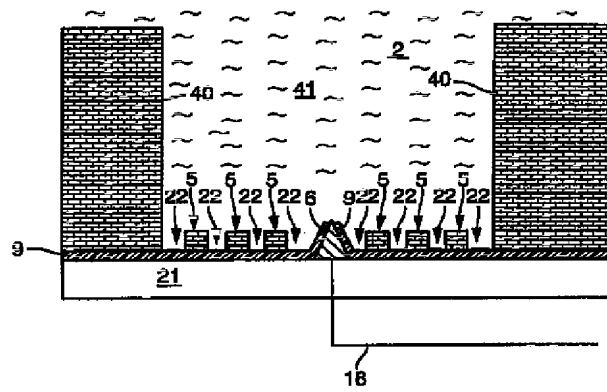
【図16】



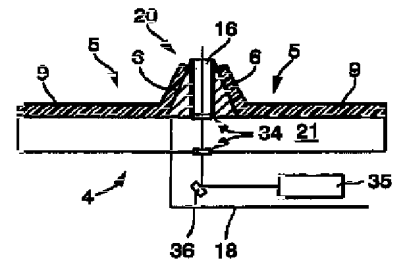
【図17】



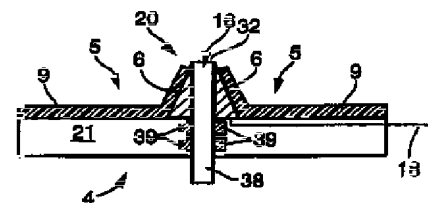
【図18】



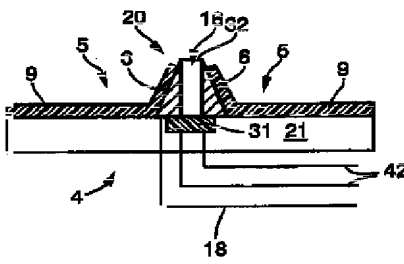
【図21】



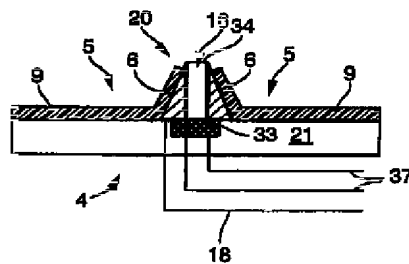
【図22】



【図19】



【図20】



フロントページの続き

- (72)発明者 ユルゲン ガーレ
ドイツ連邦共和国 エメンディンゲン パ
ノラマシュトラッセ 13
- (72)発明者 ウルリッヒ ズィーベン
ドイツ連邦共和国 ロイテ クローネンガ
ッセ 7
- (72)発明者 ミルコ レーマン
ドイツ連邦共和国 フライブルク フリー
ゼンシュトラッセ 10
- (72)発明者 ベルンハルト ヴォルフ
ドイツ連邦共和国 シュテーゲン アンド
レアスシュトラッセ 12

- (72)発明者 ヴェルナー バウマン
ドイツ連邦共和国 ビュール リートマッ
テンシュトラッセ 18
- (72)発明者 インゴ フロイント
ドイツ連邦共和国 フォークツブルクー
ーバーロートヴァイル オーバーミューレ
ンヴェーク 1
- (72)発明者 ラルフ エーレット
ドイツ連邦共和国 メルディンゲン エン
グガッセ 19
- (72)発明者 マルチン ブリッシュヴァイン
ドイツ連邦共和国 シュヴァインフルト
シュテファンシュトラッセ 6